

Monoklonální gamapatie

Šolcová L.

Monoklonální gamapatie (MG) tvoří velmi heterogenní skupinu onemocnění, která je charakterizována proliferací jednoho klonu diferencovaných B-lymfocytů produkujících homogenní imunoglobulin, tzv. monoklonální imunoglobulin (M-Ig, synonyma – paraprotein, M-komponenta, M-gradient). Tento monoklonální imunoglobulin můžeme prokázat v séru a/ nebo v moči. Monoklonální gamapatie můžeme také definovat jako skupinu chorob, které vznikají mutací buňky B-lymfocytární řady. Prof. Kyle (z Mayo Clinic) zavedl dělení monoklonálních gamapatií na maligní monoklonální gamapatie a monoklonální gamapatie nejasného (neurčeného významu) – tzv. MGUS (monoclonal gammopathy of undetermined significance). (1,2,3,4,5). Klasifikace monoklonálních gamapatií je uvedena v tabulce č. 3.

Historie monoklonálních gamapatií (paraproteinémií) je dnes již více než 150 let dlouhá. Od první analýzy moče nemocného s mnohočetným myelomem v roce 1847 Henry Bence Jonesem, přes první klinický popis mnohočetného myelomu prof. Otto Kahlerem měl zásadní význam v poznatcích o monoklonálních gamapatiích rozvoj laboratorních metod v 30. letech minulého století, a to zejména elektroforetických a imunochemických, který vedl až k současným úspěchům terapeutickým.(1,2)

Monoklonální imunoglobulin (M – protein, M – komponenta, paraprotein) se může skládat jak z intaktní imunoglobulinové molekuly nebo také jen ze strukturálních komponent, tj. lehkých řetězců kappa či lambda, vzácněji z těžkých řetězců molekuly imunoglobulinu. Mezi základní vyšetřovací metody detekce monoklonálního imunoglobulinu řadíme elektroforézu proteinů séra a imunofixační elektroforézu. Další zásadní a důležitou metodou v diagnostice a monitorování je stanovení volných lehkých řetězců. (1,2)

V posledních letech je pozorován postupný nárůst výskytu (incidence) monoklonálních gamapatií. V naprosté většině případů průkazu monoklonální gamapatie jde o tzv. benigní paraproteinémie, monoklonální gamapatie nejasného významu (MGUS).(1,2) Určení zda MGUS zůstane stabilní nebo bude progredovat do mnohočetného myelomu (MM) nebo jiné příbuzné nemoci je z klinického hlediska důležité. (2) Stanovení volných lehkých řetězců

kappa a lambda a jejich K/L indexů je již v dnešní době nezbytným doplňkovým vyšetřením u monoklonálních gamapatií spolu s elektroforézou bílkovin séra a imunofixační elektroforézou. V případě zjištění přítomnosti monoklonálního gradientu v séru nebo v moči je tedy nutné další důkladné vyšetření. Monoklonální volné lehké řetězce imunoglobulinů bývají prokázány především v moči nemocných MM. Jejich přítomnost v moči nemocných u MGUS je nepříznivým prognostickým ukazatelem. Dalším nepříznivým faktorem je abnormální poměr K/L indexů.

MONOKLONÁLNÍ GAMAPATIE NEJASNÉHO VÝZNAMU

Monoklonální gamapatie nejasného významu je definována jako klinicky němý bezpříznakový stav, při kterém nejsou splněna diagnostická kritéria mnohočetného myelomu, M.Wadenstrom, AL-amyloidózy nebo jiného zhozného lymfoproliferativního onemocnění. Monoklonální gamapatie nejasného významu je nejčastější monoklonální gamapatí. Prevalence v celé populaci dospělých osob se pohybuje kolem 1% pozorování za rok (2,5). Frekvence výskytu dále stoupá s věkem a u lidí nad 50 let je přítomna zhruba u 3% populace, v případě mužů nad 80 let je pak prevalence více než 8% (5,6). Muži jsou postiženi o něco málo častěji než ženy. Zhruba 70% MGUS se vyskytuje ve třídě IgG, následuje třída IgM (cca 17%) a nejméně často typ IgA (cca 11%). Převažují také lehké řetězce kappa (62%) nad lambda (38%) (2). Zajímavý je rozdílný výskyt MGUS u různých etnických skupin – 8,6% u afroameričanů, 3-6% u bělochů a 2,7% u Japonců. U bělochů přítom prevalence s věkem narůstá, u afroameričanů se naopak prevalence překvapivě s narůstajícím věkem nemění (5,6). V současné době je na MGUS pohlíženo jako na prekancerózu. Podobně jako je tomu například u střevních polypů, nese každý jednotlivý pacient s MGUS jiné riziko progresu do malignity v závislosti na vlastnostech MGUS.

Jaká jsou diagnostická kritéria MGUS?

Diagnostika MGUS je založena na detekci přítomnosti monoklonálního imunoglobulinu elektroforézou bílkovin s následnou imunofixací. Základní diagnostická kritéria pro MGUS jsou uvedena v Tab. 1. V ní je též uvedeno, že základním parametrem diagnostiky MGUS je nepřítomnost tkáňového nebo orgánového postižení. Toto je jedním z problémů při interpretaci klinického obrazu MGUS. Je nutné pátrat po orgánovém postižení ve smyslu anémie, selhání ledvin, přítomnosti hyperkalcémie a kostního onemocnění. Je nutné vyloučit jinou preexistující malignitu. Vždy je nutné pečlivě zvážit, zdali symptomy,

kteří pacient má, mohou nebo nemohou být v souvislosti s MGUS a současně zda jsou symptomy a případná choroba příčinou MGUS či jejím následkem. Co se týče vyšetření kostní dřeně, je nutné zvážit, zda je opravdu indikované. Mělo by být provedeno všude tam, kde je přítomno jakékoli orgánové postižení či je klinické podezření na malignitu, nejlépe současně aspirát s biopsií dřeně současně (2,5). Jelikož je dnes součástí diagnózy průkaz klonality plazmatických buněk, je nezbytné i imunofenotypizační či imunohistochemické vyšetření (2). U pacientů s nízkou hladinou MIG a současně absencí jakýchkoli obtíží a nepřítomností jakéhokoli orgánového postižení tedy není nezbytně nutné vyšetření kostní dřeně provádět, jedná se však pouze o individuální případy. K posouzení rizika onemocnění je nutné provedení analýzy volných lehkých řetězců.

Jedním z intenzivně studovaných prognostických faktorů, který vstoupil do diagnostiky MGUS, je stanovení volných lehkých řetězců v séru pacientů, respektive stanovení poměru kappa/lambda řetězců. První úvahy o významu FLCr jako markeru prognózy MGUS byly poprvé prezentovány v roce 2004 Rajkumarem (7), kdy nejprve z analýzy malé skupiny pacientů vyplynulo, že FLCr u pacientů

s progresivní chorobou je častěji abnormální, poté již na velké kohortě pacientů (1148 jedinců s MGUS z registru Mayo Clinic) bylo ověřeno, že jedinci s abnormálním poměrem FLCr mají asi 2,6x vyšší riziko rozvoje malignity než jedinci s normálním FLCr (7)

Tab. 1 Diagnostická kritéria MGUS

| |
|--|
| M-protein v séru <30 g/l |
| Klonální plazmatické buňky v kostní dřeni <10 % |
| Není důkaz o přítomnosti jiného lymfoproliferativního onemocnění |
| Není přítomno orgánové nebo tkáňové postižení |

Jaký je klinický průběh onemocnění?

Přirozený průběh onemocnění má obvykle benigní charakter, avšak je zde riziko progresu do maligního onemocnění. Nejčastější je transformace MGUS do mnohočetného myelomu, AL amyloidózy, Waldenströmovy makroglobulinémie a eventuálně jiných lymfoproliferací. Jaké je riziko progresu MGUS do malignity ukazuje tab. č. 2.

Tab. 2 Riziko progresu MGUS do malignity (Kyle 2008)

| Riziková skupina | Relativní riziko | Absolutní riziko progresu ve 20 letech |
|--|------------------|--|
| „Low-risk“ (MIG <15 g/L, IgG, normální FLCr (0.26-1.65)) | 1 | 5 % |
| „Low-Intermediate-risk“ (1 faktor abnormální) | 5,4 | 21 % |
| „High-Intermediate-risk“ (2 faktory abnormální) | 10,1 | 37 % |
| „High-risk“ (3 faktory abnormální) | 20,8 | 58 % |

Tab. 3 Klasifikace monoklonálních gamapatií (Kyle 2006)

| |
|---|
| Monoklonální gamapatie nejasného významu (MGUS) |
| Benigní (IgG, IgA, IgD, IgM, a vzácně lehké řetězce) |
| Asociované s nádory z buněk neprodukcujících MIG |
| Biklonální a triklonální gamapatie |
| Idiopatická Bence-Jonesova proteinurie |
| Maligní monoklonální gamapatie |
| Mnohočetný myelom (IgG, IgA, IgD, IgE a free lambda nebo kappa) |
| Symptomatický a asymptomatický MM |
| Plazmocelulární leukémie |
| Nesekreční myelom |
| IgD myelom |
| POEMS syndrom: polyneuropatie, organomegalie, endokrinopatie, MIG, kožní změny (skin) |

| | |
|--------------------------|----------------------------------|
| Plazmocytom | |
| | Solitární kostní plazmocytom |
| | Extramedulární plazmocytom |
| Maligní lymfoproliferace | |
| | Waldenströmova makroglobulinémie |
| | Maligní lymfomy |
| | Chronická lymfatická leukémie |
| Nemoci těžkých řetězců | |
| | μ Heavy-chain disease |
| | α Heavy-chain disease |
| | γ Heavy-chain disease |
| AL amyloidóza | |

METODY STANOVENÍ MONOKLONÁLNÍCH GAMAPATIÍ

A) Elektroforéza sérových bílkovin (ELFO)

Elektroforéza sérových bílkovin (ELFO) je základní metoda, která slouží k vyhledávání a kvantifikaci monoklonálního imunoglobulinu (M-komponenty) v séru i jiných tělesných tekutinách. Slouží jako screeningová metoda, tj. jako metoda „vyhledávání odchylek od normy“ ve složení spektra proteinů tělních tekutin. Separace proteinů se provádí na vhodném nosiči, např. na agarózovém gelu. Proteiny tvoří velkou skupinu látek přítomných v plazmě (séru), jejichž celková koncentrace se pohybuje v rozmezí 65 - 80 g/L. Při elektroforéze na agaróze získáme šest frakcí: nejrychlejší je frakce albuminu, za ním následují alfa-1 globuliny (α_1), alfa-2 globuliny (α_2), beta-1 globuliny (β_1), beta-2 globuliny (β_2) a gama globuliny (γ). Současné elektroforetické metody jsou velmi citlivé a dokážou zachytit M-gradienty kolem 0,5 g/l. (1,2). Při průkazu M- komponenty nebo při podezření na její přítomnost v elektroforeogramu by měla následovat imunofixační imuno elektroforéza séra či moče.

B) Imunofixační elektroforéza séra i moče

Imunofixace je metoda umožňující identifikaci a typizaci monoklonálních imunoglobulinů v séru a v moči. Imunofixace je důležitá a zcela nezbytná k potvrzení nálezu elektroforézy. Citlivost je asi 50krát vyšší než elektroforéza. Imunofixace je nezbytná pro určení imunoglobulinové třídy M-Ig a pro určení antigenního typu lehkých řetězců Ig. Imunofixace se používá také jako skrining např.

u podezření na AL amyloidózu, kdy kvantita M-proteinů může být tak nízká, že není možná jejich detekce při elektroforéze. Imunofixace detekuje v séru koncentrace M-proteinu kolem 0,2 g/l a v moči kolem 0,04 g/l. Je-li imunofixace negativní s antiséry proti imunoglobulinům A,G a M, a jsou přítomny monoklonální lehké řetězce kappa nebo lambda, měla by následovat imunofixace s antiséry proti IgD a IgE (2).

C) Volné lehké řetězce v séru/moči

Volné lehké řetězce kappa a lambda jsou u zdravých jedinců běžně produkovány v množství asi 500 mg denně ve zdravých plazmatických buňkách dřeně a lymfatické tkáni (2). Vzhledem k faktu, že jde o relativně malou molekulu složenou ze zhruba 220 aminokyselin, prochází volné glomerulární filtrací do moči. Zde jsou pak FLC za normálních okolností reabsorbovány zpět pinocytózou do krevního řečiště tak, že jen asi 10 mg FLC je denně vyloučeno močí. Relativně rychlá clearance je důvodem pro krátký biologický poločas novotvořených FLC v séru (2-4 hodiny pro kappa a 3-6 hodin pro lambda). Za patologických okolností může koncentrace FLC stoupat. Jednak může jít o problém na straně ledvin (4), tedy z důvodu snížené glomerulární filtrace FLC, kdy proporcionálně stoupají jak řetězce kappa, tak lambda. Proto se v praxi využívá častěji pro vyjádření patologické nadprodukce jednoho či druhého typu poměr FLC (FLCr), který lépe odráží přítomnost patologické klonální produkce. V praxi jsou nejvíce využívány pro svou rychlost a jednoduchost stanovení nefelometrické a turbidimetrické metody. Stanovení FLC je využíváno jako nástroj pro diagnostiku a monitoring monoklonálních gamapatií.

D) Stanovení párů lehkých/těžkých řetězců- Hevylite

Tato nová metoda umožňuje detekci páru lehkého a těžkého řetězce imunoglobulinu („heavy/light chain“ - HLC). Je to jednoduchá, rychlá a automatizovaná technika umožňující i kvantifikaci a typizaci jednotlivých složek M-proteinu.

E) Imunofenotypizační vyšetření a vyšetření genomu

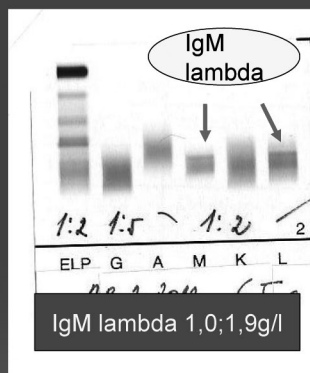
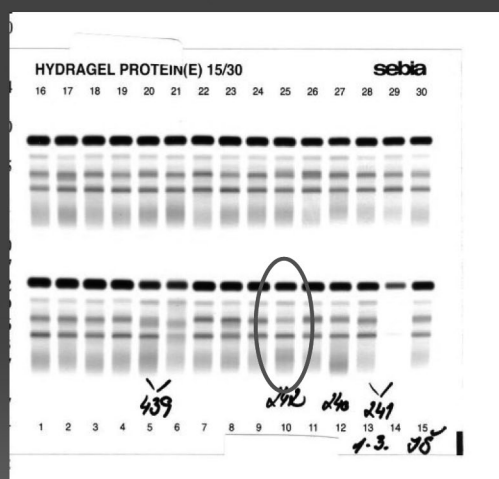
S rostoucími poznatky o biologii monoklonálních gamapatií roste také význam imunofenotypizačního, cytogenetického a zejména celogenomového vyšetření. Klasická cytogenetika společně s metodami FISH dovede odhalit chromozomové translokace běžně udávané pro mnohočetný myelom. Nejprogresivnějším směrem poslední doby je stanovení profilu genové exprese.

LITERATURA:

1. Tichý M. Laboratorní analýza monoklonálních imunoglobulinů (paraproteinů). 1.vydání Finidr, Český Těšín 1997: 96s.
2. Maisnar V., Tichý M. a kol. Monoklonální imunoglobuliny – výskyt, význam a možnosti jejich průkazu. 1.vydání Nucleus HK, Praha 2012: 129s.

3. Maisnar, V. Diferenciální diagnostika monoklonálních gamapatií. Lék. Zpr. LFUK Hradec Králové, 42, 1997, 7-8, 167-174.
4. Špička, I. et al., Mnohočetný myelom a další monoklonální gamapatie, 2005, Galén Praha, s :119
5. Maisnar, V. Riziko přechodu monoklonální gamapatie nejasného významu do maligní monoklonální gamapatie. Klin Biochem Metab, 2013, vol. 21, No.2, s 93-96
6. Kyle RA, Rajkumar SV. Monoclonal gammopathy of undetermined significance. Br J Haematol 2006, 134:573-89
7. Rajkumar SV., Kyle RA., Therneau TM., Bradwell AR, Clark RJ., Melton LJ., Larson DRI, Plevak MF, Dispienzeri A., Katzman JA Serum free light chain ratio is an independent risk factor for progression in monoclonal gammopathy of undetermined significance. Blood, 2005, 106, s.812-17

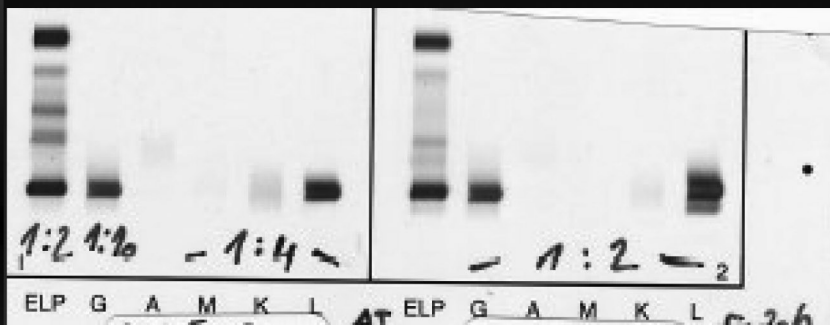
ELFO a IF – žena r.1952



IgM = 6,18 g/l

Případ stanovení paraproteinu typu IgM lambda v séru u pacientky s MGUS

Imunofixační vyšetření – sérum, moč



Případ stanovení paraproteinu IgG lambda v séru i v moči u pacientky s mnohočetným myelomem